

日本国特許庁
JAPAN PATENT OFFICE

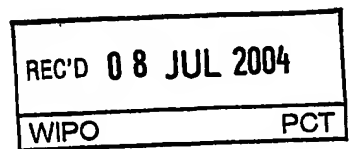
11. 5. 2004

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日
Date of Application: 2003年 5月 7日

出願番号
Application Number: 特願2003-129251
[ST. 10/C]: [JP2003-129251]



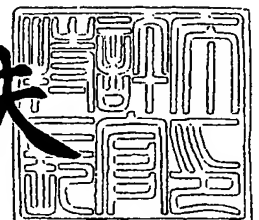
出願人
Applicant(s): エーザイ株式会社

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

2004年 6月17日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今井康夫



【書類名】 特許願

【整理番号】 E0006SP02

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 A61K 9/00

【発明者】

 【住所又は居所】 愛知県一宮市神山 2 - 1 - 2 5 C

 【氏名】 野村 晃子

【発明者】

 【住所又は居所】 岐阜県各務原市鵜沼東町 5 - 3 5 - 2

 【氏名】 加藤 晃良

【特許出願人】

 【識別番号】 000000217

 【氏名又は名称】 エーザイ株式会社

【代理人】

 【識別番号】 100079108

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 稲葉 良幸

【選任した代理人】

 【識別番号】 100080953

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 田中 克郎

【選任した代理人】

 【識別番号】 100093861

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 大賀 眞司

【手数料の表示】

 【予納台帳番号】 011903

 【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 メチルコバラミン含有凍結乾燥製剤及びその製造方法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 メチルコバラミン又はその薬理学的に許容しうる塩と、賦形剤と、を含み、

前記賦形剤のうち少なくとも 1 種類以上が非晶質状態である凍結乾燥製剤。

【請求項 2】 前記メチルコバラミン又はその薬理学的に許容しうる塩が、さらに非晶質状態である、請求項 1 記載の凍結乾燥製剤。

【請求項 3】 非晶質状態である前記賦形剤は糖類を含む、請求項 1 又は 2 記載の凍結乾燥製剤。

【請求項 4】 前記賦形剤は、糖アルコールをさらに含む、請求項 1 乃至 3 のうち何れか一項に記載の凍結乾燥製剤。

【請求項 5】 前記凍結乾燥製剤は、pH 調整剤をさらに含む、請求項 1 乃至 4 のうち何れか一項に記載の凍結乾燥製剤。

【請求項 6】 前記凍結乾燥製剤は、酸化防止剤をさらに含む、請求項 1 乃至 5 のうち何れか一項に記載の凍結乾燥製剤。

【請求項 7】 前記賦形剤が糖類及び糖アルコールを含む場合、糖類と糖アルコール類の合計重量に対して、非晶質状態である前記賦形剤を少なくとも 20 重量%含有する、請求項 1 乃至 4 のうち何れか一項に記載の凍結乾燥製剤。

【請求項 8】 メチルコバラミン又はその薬理学的に許容しうる塩と、賦形剤とを含み、

(a) 前記メチルコバラミン又はその薬理学的に許容しうる塩と前記賦形剤とを、溶媒に溶解させる工程と、

(b) 前記賦形剤のうち少なくとも 1 種類以上の非晶質状態が生じるように、前記溶液を凍結乾燥させる工程と、を備える製造方法により得られる凍結乾燥製剤。

【請求項 9】 前記工程 (b) において、前記メチルコバラミン又はその薬理学的に許容しうる塩の非晶質状態をさらに生ずるように凍結乾燥させる、請求項 8 記載の凍結乾燥製剤。

【請求項 10】 前記工程 (b) において、前記賦形剤の結晶化が起らない温度以下で予備凍結を行う、請求項 8 又は 9 記載の凍結乾燥製剤。

【請求項 11】 非晶質状態である前記賦形剤は糖類を含む、請求項 8 乃至 10 のうち何れか一項に記載の凍結乾燥製剤。

【請求項 12】 前記賦形剤は、糖アルコールをさらに含む、請求項 8 乃至 11 のうち何れか一項に記載の凍結乾燥製剤。

【請求項 13】 前記工程 (a) において、さらに pH 調整剤を溶解させる、請求項 8 乃至 12 のうち何れか一項記載の凍結乾燥製剤。

【請求項 14】 前記工程 (a) において、さらに酸化防止剤を溶解させる、請求項 8 乃至 13 のうち何れか一項に記載の凍結乾燥製剤。

【請求項 15】 前記賦形剤が糖類及び糖アルコールを含む場合、糖類と糖アルコール類の合計重量に対して、非晶質状態である前記賦形剤を少なくとも 20 重量%含有する、請求項 8 乃至 12 のうち何れか一項に記載の凍結乾燥製剤。

【請求項 16】 メチルコバラミン含有凍結乾燥製剤の製造方法であって、
(1) 前記メチルコバラミン又はその薬理学的に許容しうる塩と前記賦形剤とを、溶媒に溶解させる工程と、

(2) 前記賦形剤のうち少なくとも 1 種類以上の非晶質状態が生じるように、前記溶液を凍結乾燥させる工程と、

を備える製造方法。

【請求項 17】 前記工程 (2) において、前記メチルコバラミン又はその薬理学的に許容しうる塩の非晶質状態がさらに生じるように凍結乾燥させる、請求項 16 記載の製造方法。

【請求項 18】 前記工程 (2) において、前記賦形剤の結晶化が起らない温度以下で予備凍結を行う、請求項 16 又は 17 記載の製造方法。

【請求項 19】 非晶質状態である前記賦形剤は糖類を含む、請求項 16 乃至 18 のうち何れか一項に記載の製造方法。

【請求項 20】 前記賦形剤は、糖アルコールをさらに含む、請求項 16 乃至 19 のうち何れか一項に記載の製造方法。

【請求項 21】 前記凍結乾燥製剤は、pH 調整剤をさらに含む、請求項 1

6 乃至 2 0 の何れか一項記載の製造方法。

【請求項 2 2】 前記凍結乾燥製剤は、酸化防止剤をさらに含む、請求項 1 6 乃至 2 1 のうち何れか一項記載の製造方法。

【請求項 2 3】 前記賦形剤は糖類及び糖アルコール類を含む場合、糖類及び糖アルコール類の合計重量に対して、非晶質状態である前記賦形剤を少なくとも 2 0 重量%含有する、請求項 1 6 乃至 2 2 のうち何れか一項に記載の製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0 0 0 1】

【発明の属する技術分野】

本発明は、筋萎縮性側索硬化症治療剤としてのメチルコバラミンを含有する、高濃度注射用の凍結乾燥製剤及びその製造方法に関する。

【0 0 0 2】

【従来の技術】

筋萎縮性側索硬化症は、脳幹・脊髄・運動ニューロンの病変を主体とし、球症状、上位運動ニューロン障害、下位運動ニューロン障害が進行する疾患であり、ALS (amyotrophic lateral sclerosis) とも呼称される。そして、「脊髄及び大脳の運動神経細胞が変性、消失するため、臨床的には全身の筋萎縮、痙性を招来し、通常、2～3年で呼吸筋の麻痺により死亡する」、いわゆる難病の一種である。

【0 0 0 3】

筋萎縮性側索硬化症はその原因が解明されておらず、その根本治療法はもちろんのこと、その進行の抑止若しくは進行の遅延すら、有効に行う治療法さえも未だに見出されていないのが現状であった。

【0 0 0 4】

近年、梶は、ヒトの抹消神経障害の治療に有効なメチルコバラミンを多量に投与すると（たとえば、メチルコバラミン 1 5 ～ 5 0 m g / 1 日 1 回筋注）、筋萎縮性側索硬化症患者において、用量依存的に自覚的な筋力上昇やその他覚的指標である筋複合活動電位の振幅の有意な増加が観測された。そして、従来の治療剤

によっては得られたことのない顕著な治療効果が得られることを発見し、メチルコバラミンを有効成分とする筋萎縮性側索硬化症治療剤として、メチルコバラミン高濃度製剤用の水性注射剤が提案されている（たとえば、特許文献1参照）。

【0005】

なお、ヒトの抹消神経障害の治療におけるメチルコバラミンの投与量は、通例、0.5～1.5mg/1日である。

【0006】

しかしながら、かかる水性注射剤は、エタノール、生理食塩水又は緩衝液に溶解させた、15～50ml/アンプルのメチルコバラミン溶液であるために、光安定性や保存安定性の確保は困難であり、さらに無菌性の保証が困難であるという問題点が指摘されていた。

【0007】

一方、ビタミン剤の一種であるメチルコバラミンを薬効成分として含有する注射用凍結乾燥製剤は、種々の必須ビタミンを含有する総合ビタミン注射製剤に関して、主に検討が進められてきた。これらの総合ビタミン製剤の場合には、凍結乾燥製剤とする際に、保存中の安定性の確保や再溶解後の溶解状態の改善について課題が多いことが知られている（たとえば、特許文献2ないし4参照）。

【0008】

【特許文献1】

特開平10-218775号

【特許文献2】

特開昭62-38号

【特許文献3】

特開昭63-3137号

【特許文献4】

特開平1-132514号

【発明が解決しようとする課題】

そこで、本発明は、上記事情に鑑み、経時的な安定性に優れる、メチルコバラミンの高濃度療法に使用可能である、メチルコバラミンの高含有量を含む凍結乾

燥製剤を提供することを、第一の目的とする。

【0 0 0 9】

また、本発明は、メチルコバラミンが凍結乾燥固体中で安定に存在する、メチルコバラミンを含む凍結乾燥製剤の製造方法を提供することを、第二の目的とする。

【0 0 1 0】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは、上記の点を解決すべく鋭意研究した結果、メチルコバラミンは結晶質の凍結乾燥固体中で存在するよりも、非晶質の凍結乾燥固体中で安定であることを見出し、本発明を完成するに至った。

【0 0 1 1】

すなわち、上記第一の目的は、メチルコバラミン又はその薬理学的に許容しうる塩と、賦形剤と、を含む凍結乾燥製剤であって、前記賦形剤のうち少なくとも1種類以上が非晶質状態である凍結乾燥製剤により達成される。

【0 0 1 2】

本発明の好ましい態様によれば、前記凍結乾燥製剤において、前記メチルコバラミン又はその薬理学的に許容しうる塩がさらに非晶質状態であることを特徴とする。

【0 0 1 3】

本発明の好ましい態様によれば、前記凍結乾燥製剤において、非晶質状態である前記賦形剤が糖類を含むことを特徴とする。

【0 0 1 4】

本発明の好ましい態様によれば、前記凍結乾燥性製剤において、前記賦形剤が糖アルコールをさらに含むことを特徴とする。

【0 0 1 5】

本発明の好ましい態様によれば、前記凍結乾燥製剤において、前記凍結乾燥製剤がpH調整剤をさらに含むことを特徴とする。

【0 0 1 6】

本発明の好ましい態様によれば、前記凍結乾燥製剤において、前記凍結乾燥製

剤が酸化防止剤をさらに含むことを特徴とする。

【0017】

本発明の好ましい態様によれば、前記凍結乾燥製剤において、前記賦形剤が糖類及び糖アルコールを含む場合、糖類と糖アルコール類の合計重量に対して、非晶質状態である前記賦形剤を少なくとも20重量%含有することを特徴とする。

【0018】

本発明の好ましい態様によれば、前記凍結乾燥製剤において、前記糖類はスクロース又はラクトースであることを特徴とする。

【0019】

本発明の好ましい態様によれば、前記凍結乾燥製剤において、前記糖アルコールはマンニトールであることを特徴とする。

【0020】

また、上記第一の目的は、メチルコバラミン又はその薬理学的に許容しうる塩と、賦形剤とを含み、(a) 前記メチルコバラミン又はその薬理学的に許容しうる塩と前記賦形剤とを、溶媒に溶解させる工程と、(b) 前記賦形剤のうち少なくとも1種類以上の非晶質状態が生じるように、前記溶液を凍結乾燥させる工程と、を備える製造方法により得られる凍結乾燥製剤により達成される。

【0021】

本発明の好ましい態様によれば、前記凍結乾燥製剤にて、前記工程(b)において、前記メチルコバラミン又はその薬理学的に許容しうる塩の非晶質状態をさらに生ずるように凍結乾燥させることを特徴とする。

【0022】

本発明の好ましい態様によれば、前記凍結乾燥製剤にて、前記工程(b)において、前記賦形剤の結晶化が起こらない温度以下で予備凍結を行うことを特徴とする。特に、凍結乾燥させる際の予備凍結は、前記賦形剤の共晶点以下の温度であることが好ましい。

【0023】

本発明の好ましい態様によれば、前記凍結乾燥製剤において、非晶質状態である前記賦形剤が糖類を含むことを特徴とする。

【0024】

本発明の好ましい態様によれば、前記凍結乾燥製剤において、前記賦形剤が糖アルコールをさらに含むことを特徴とする。

【0025】

本発明の好ましい態様によれば、前記凍結乾燥製剤にて、前記工程（a）において、pH調整剤をさらに溶解させることを特徴とする。

【0026】

本発明の好ましい態様によれば、前記凍結乾燥製剤にて、前記工程（a）において、酸化防止剤をさらに溶解させることを特徴とする。

【0027】

本発明の好ましい態様によれば、前記凍結乾燥製剤において、前記賦形剤が糖類及び糖アルコールを含む場合、糖類と糖アルコール類の合計重量に対して、非晶質状態である前記賦形剤を少なくとも20重量%含有することを特徴とする。

【0028】

本発明の好ましい態様によれば、前記凍結乾燥製剤において、前記糖類はスクロース又はラクトースであることを特徴とする。

【0029】

本発明の好ましい態様によれば、前記凍結乾燥製剤において、前記糖アルコールはマンニトールであることを特徴とする。

【0030】

さらに、上記第二の目的は、メチルコバラミン含有凍結乾燥製剤の製造方法であって、（1）前記メチルコバラミン又はその薬理学的に許容しうる塩と前記賦形剤とを、溶媒に溶解させる工程と、（2）前記賦形剤のうち少なくとも1種類以上の非晶質状態が少なくとも生じるように、前記溶液を凍結乾燥させる工程と、を備える製造方法により達成される。

【0031】

本発明の好ましい態様によれば、前記製造方法にて、前記工程（2）において、前記メチルコバラミン又はその薬理学的に許容しうる塩の非晶質状態がさらに生じるように凍結乾燥させることを特徴とする。

【 0 0 3 2 】

本発明の好ましい態様によれば、前記製造方法にて、前記工程（２）において、前記賦形剤の結晶化が起こらない温度以下で予備凍結を行うことを特徴とする。特に、凍結乾燥させる際の予備凍結は、前記賦形剤の共晶点以下の温度であることが好ましい。

【 0 0 3 3 】

本発明の好ましい態様によれば、前記製造方法において、非晶質状態である前記賦形剤が糖類を含むことを特徴とする。

【 0 0 3 4 】

本発明の好ましい態様によれば、前記製造方法において、前記賦形剤が糖アルコールをさらに含むことを特徴とする。

【 0 0 3 5 】

本発明の好ましい態様によれば、前記製造方法において、前記凍結乾燥製剤が pH 調整剤をさらに含むことを特徴とする。

【 0 0 3 6 】

本発明の好ましい態様によれば、前記製造方法において、前記凍結乾燥製剤が酸化防止剤をさらに含むことを特徴とする。

【 0 0 3 7 】

本発明の好ましい態様によれば、前記製造方法において、前記賦形剤は糖類及び糖アルコール類を含む場合、糖類及び糖アルコール類の合計重量に対して、非晶質状態である前記賦形剤を少なくとも 2 0 重量％含有することを特徴とする。

【 0 0 3 8 】

本発明の好ましい態様によれば、前記製造方法において、前記糖類はスクロース又はラクトースであることを特徴とする。

【 0 0 3 9 】

本発明の好ましい態様によれば、前記製造方法において、前記糖アルコールはマンニトールであることを特徴とする。

【 0 0 4 0 】**【発明の実施の形態】**

本発明は、メチルコバラミン高濃度療法に使用可能なメチルコバラミン高含量凍結乾燥製剤を提供するものである。以下、本発明を詳細に説明する。

【0041】

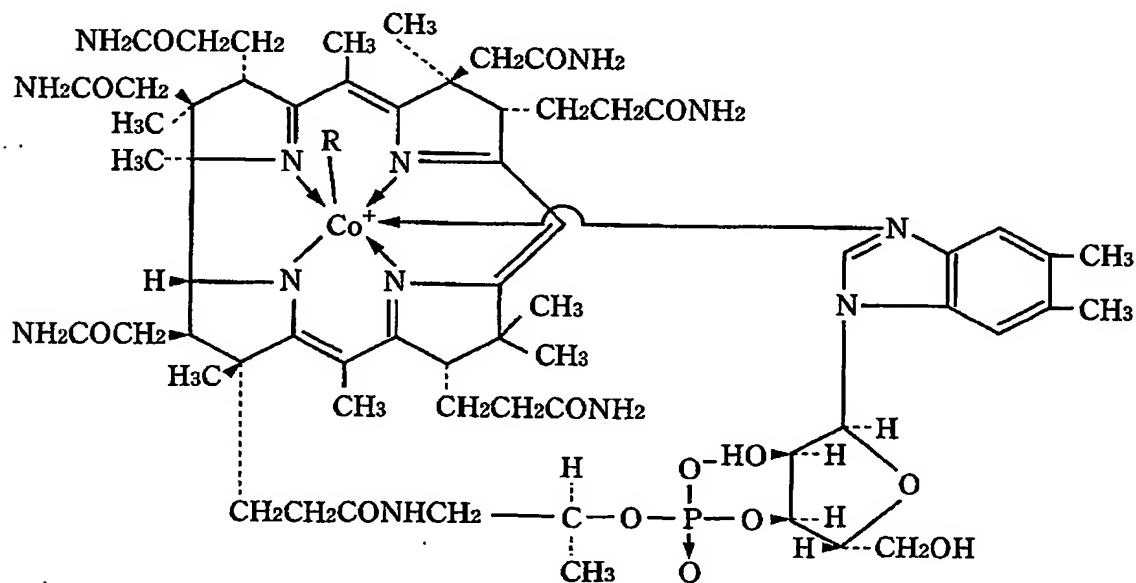
本発明に利用されるメチルコバラミンは、血液・髄液中存在型の補酵素型ビタミンB₁₂である。他のB₁₂同族体と比較して神経組織への移行性に優れており、糖尿病性神経障害、多発性神経炎などの抹消性神経障害、特に、しびれ、痛み、麻痺の予防・治療・改善やビタミンB₁₂欠乏による巨赤芽球性貧血に用いられることが知られている。

【0042】

メチルコバラミンはビタミンB₁₂類似物質であり、この物質はビタミンB₁₂（シアノコバラミン）のコバルトに結合しているシアノ基がメチル基に置換した化合物であって、その化学式はC₆₃H₉₁CoN₁₃O₁₄Pであり、分子量は1344.4の赤色粉末である（下記式（I）を参照）。

【0043】

【化1】



R = CN: シアノコバラミン (II)

R = CH₃: メチルコバラミン (I)

本発明に利用するメチルコバラミンは、たとえば、特公昭45-38059号公報に記載された方法により、シアノコバラミン（上記式（I I））からの還元反応とそれに続くメチル化反応を経て製造可能である。また、市販の医薬品グレードのメチルコバラミン原薬を用いることもできる。たとえば、シグマ社やエーザイ（株）等から市販されている。さらに、本発明においては、メチルコバラミンの薬理学的に許容し得る塩を用いることもできる。さらにまた、前記メチルコバラミンは光学活性体あるいはラセミ体であってもよい。

【0044】

上記薬理学的に許容し得る塩としては、通常、酸との塩、たとえば、塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸などの無機塩、また、たとえば、トリフルオロ酢酸、酒石酸、クエン酸、フマル酸、マレイン酸、トルエンスルホン酸、メタンスルホン酸などの有機酸との塩が挙げられる。

【0045】

本発明に係る凍結乾燥製剤は、前述のメチルコバラミン又はその薬理学的に許容しうる塩の高含量を有効成分として含む。ここで、本発明で用いる用語「高含量」とは、1バイアル中、通常、5～200mg、好ましくは10～100mg、さらに好ましくは25～50mg含有するものをいい、用時溶解させたときの濃度は、1バイアル中に、通常、5～50mg/ml、好ましくは5～25mg/ml、さらに好ましくは10～15mg/mlであるものをいう。

【0046】

本発明に係る凍結乾燥製剤は、メチルコバラミンと賦形剤とを少なくとも含むが、その配合割合は、重量比でメチルコバラミン1に対して、賦形剤は、0～50であり、好ましくは2.5～25であり、さらに好ましくは5～10である。

【0047】

本発明に用いられる賦形剤は、糖類、糖アルコール類やアミノ酸類から選択され得る。後述するように凍結乾燥時に非晶質状態が生じる糖類を少なくとも1種類以上含有すればよい。凍結乾燥時に非晶質状態が生じる糖類としては、以下のものに限定されるわけではないが、例えば、単糖類としては、グルコース、フルクトース等を、二糖類としては、マルトース、ラクトース、スクロース、トレハ

ロース等を挙げることができる。凍結乾燥時に非晶質状態が生じる糖アルコールの具体例としては、以下のものに限定されるわけではないが、イノシトール、ソルビット等を挙げることができる。とりわけ、凍結乾燥時に非晶質状態が生じる賦形剤としては、ラクトースやスクロースが好ましい。

【0048】

本発明において利用される賦形剤が糖類及び糖アルコールから構成される場合には、後述する製造方法により製造された凍結乾燥製剤の保存安定性の観点から、糖類と糖アルコール類の合計重量に対して、非晶質状態である賦形剤を少なくとも20重量%含有することが好ましく、より好ましくは40重量%含有し、さらに好ましくは50重量%含有する。

また、本発明に係る凍結乾燥製剤に利用されるアミノ酸類としては、グリシン、アラニン、アルギニン、アスパラギン酸、ヒスチジン等を挙げることができる。さらに、これらのアミノ酸を単独でも組み合わせて用いてもよい。

【0049】

さらにまた、本発明に係る凍結乾燥製剤は、pH調整剤をさらに含むことができる。pH調整剤は、医薬製剤において一般的に使用されているものを用いることができる。pH調整剤としては、無機酸、無機塩基、有機酸、有機塩基、緩衝剤を挙げることができる。具体的には、塩酸、炭酸ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、クエン酸、クエン酸ナトリウム、クエン酸2水素ナトリウムグリジン、リン酸、リン酸2水素ナトリウム、リン酸1水素ナトリウム、水酸化ナトリウム、乳酸、乳酸ナトリウム、酢酸、酢酸ナトリウム、メグルミン等を挙げることができる。

【0050】

くわえて、本発明に係る凍結乾燥製剤は、酸化防止剤をさらに含むことができる。酸化防止剤としては、医薬製剤において、通常使用されるものであればよく、具体的な例としては、亜硝酸ナトリウム、アスコルビン酸、クエン酸、トコフェノール、酢酸トコフェノール、ジブチルヒドロキシトルエン、天然ビタミンE、亜硫酸水素ナトリウム、アルファチオグリセリン、塩酸システイン、チオグリコール酸ナトリウム等を挙げることができる。

【0051】

本発明に係る凍結乾燥製剤の溶解度を上げるため、もしくは注射剤としての浸透圧を調製するために各種添加剤を添加することもできる。これらの添加剤は製剤の添加剤として通常使用されている物質の添加量であれば特に制限はなく、例えば下記のような添加剤を、必要に応じて添加してもよい。

【0052】

本発明に係る凍結乾燥製剤の溶解度を上昇させるために、又は溶解速度を上昇させるために、溶解補助剤としてポリエチレングリコール、グリセリンなどが挙げられ、また界面活性剤としてポリソルベート、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレングリコール、ポリエチレン硬化ヒマシ油、セスキオレイン酸ソルビタンなどが挙げられる。また、本発明に係る凍結乾燥製剤の浸透圧調整剤としては、ブドウ糖、キシリトール、ソルビトールなどが挙げられる。

【0053】

その他、医薬製剤に使用しうる防腐剤、安定化剤等の添加物も、必要に応じて添加することができる。具体的には、安息香酸、アスコルビン酸等を挙げることができ、当業者に利用可能な添加物の量を添加することができる。

【0054】

次に、本発明に係る凍結乾燥製剤の製造方法について述べる。本発明に係る凍結乾燥製剤は、たとえば、メチルコバラミンと、賦形剤とを、さらにはpH調整剤とを、水又は適当な水性溶媒（たとえば、水とアルコールの混合物）に溶かした溶液を、所望によりメンブレンフィルタなどを用いて濾過滅菌を行う。次いで、無菌溶液をバイアル、トレーなどに分注し、通常の凍結乾燥することによって固体状としたものが好ましい。濾過滅菌を採用すると、加熱滅菌に由来する分解物の産出を抑えることができ、不純物の少ない製剤を得ることができる。

【0055】

前述のように製造された、本発明に係る凍結乾燥製剤は、メチルコバラミンの分解、変質等を長期間抑制し、安定に保つことが可能となる。

【0056】

前述の溶液を調製する場合、公知の方法にしたがって、メチルコバラミン、賦

形剤及び pH 調整剤を、水又は水性溶媒（たとえば、水とアルコールの混合物）に溶解すればよい。溶解させる順序は、成分の種類には関係なく溶解させることができる。水性液中のメチルコバラミンの濃度は、通常、 $0.5 \text{ mg/ml} \sim 50 \text{ mg/ml}$ であり、好ましくは、 $1 \text{ mg/ml} \sim 10 \text{ mg/ml}$ であり、さらに好ましくは、 $2.5 \text{ mg/ml} \sim 7.5 \text{ mg/ml}$ である。また、賦形剤の濃度は、通常、 $0 \text{ mg/ml} \sim 200 \text{ mg/ml}$ であり、好ましくは $12.5 \text{ mg/ml} \sim 100 \text{ mg/ml}$ であり、さらに好ましくは $25 \text{ mg/ml} \sim 50 \text{ mg/ml}$ である。

【0057】

また、水性液の pH は、4～8 であることが好ましい。より好ましくは、pH が 6～8 であり、さらに好ましくは、pH が 6.5～7.5 である。前述の pH 調整剤を適宜添加することにより、所望の pH に調整可能である。

【0058】

このように調製された水性液を、好ましくは共晶点以下で予備凍結した後、乾燥庫内を真空に保持しながら、棚温を徐々に 1 次乾燥温度まで昇温し、同温度で 1 次乾燥を実行する。1 次乾燥終了後、さらに棚温を 2 次乾燥温度に到達するまで昇温し、同温度で 2 次乾燥を行う。1 次乾燥と 2 次乾燥は同温度であってもかまわない。

【0059】

具体的な凍結乾燥製剤の製造方法として、所定の濃度のメチルコバラミンと賦形剤とを含有する溶液を滅菌後、所定量をバイアル瓶に分注する。約 $-60^{\circ}\text{C} \sim -20^{\circ}\text{C}$ の条件で予備凍結を行い、次いで、約 $-20 \sim -10^{\circ}\text{C}$ で減圧下に 1 次乾燥を行い、約 $15 \sim 40^{\circ}\text{C}$ で減圧下に二次乾燥して凍結乾燥する。そして、一般的にはバイアル内部を窒素ガスで置換し、打栓して凍結乾燥製剤を得る。なお、予備凍結時には、賦形剤としてのマンニトール等の結晶化が起こらないように、共晶点以上の温度にならないような低温に維持する必要がある。

【0060】

共晶点は賦形剤を構成する成分の混合割合により異なるが、通常、糖類及び糖アルコールを含む場合、たとえば、①スクロース（ショ糖）及び/又はラクトー

ス（乳糖）と、②マンニトールをさらに含む場合は、予備凍結の温度条件は、通常、 -40°C 以下の温度で実行することが好ましい。また、賦形剤としてマンニトールのみを含有する場合、さらに好ましい予備凍結の温度条件は、 -10°C 以下であることが好ましい。

【0061】

このようにして得られる本発明に係る凍結乾燥製剤は、少なくとも賦形剤が非晶質状態で存在する場合、メチルコバラミンを長期間安定に保つことができる。

【0062】

本発明に係る凍結乾燥製剤は、任意の適当な溶液（再溶解液）の添加によって極めて容易に再溶解し、凍結乾燥前の溶液を再構築することができる。かかる再溶解液としては、用時注射用蒸留水、生理食塩水、その他一般的輸液（たとえば、ブドウ糖、アミノ酸輸液など）が挙げられる。

【0063】

本発明に係る凍結乾燥製剤を再溶解させた溶液は、静脈注射剤、皮下注射剤、筋肉注射剤、点滴注射剤などの注射剤又は点眼剤として、非経口投与することができる。この注射用蒸留水又は輸液で溶解した液は十分に安定である。この場合、溶解液中のメチルコバラミンの濃度は、約 $5\text{ mg/ml} \sim 50\text{ mg/ml}$ であり、好ましくは $5\text{ mg/ml} \sim 25\text{ mg/ml}$ であり、さらに好ましくは $10\text{ mg/ml} \sim 15\text{ mg/ml}$ である。賦形剤の濃度は、 $0\text{ mg/ml} \sim 100\text{ mg/ml}$ であり、好ましくは 12.5 mg/ml から 75 mg/ml であり、さらに好ましくは $25\text{ mg/ml} \sim 50\text{ mg/ml}$ である。

【0064】

本発明に係る凍結乾燥製剤の特徴について説明する。本発明における安定性とは、化学的及び物理的な安定性を意味する。加温条件下での保存における経時的分解により、主成分であるメチルコバラミンの残存量が減少し、製剤としての凍結乾燥製剤の外観に顕著な着色が見られる。顕著な着色分解が観測された製剤の使用は、溶解時に濁り、沈殿が生じる蓋然性が高いため好ましくはないが、一般的には、残存量が安定性の指標となる。

【0065】

本発明では、残存率は次のように定義される。メチルコバラミンを含む凍結乾燥製剤をバイアルに密閉し、5℃～40℃の範囲から選ばれた温度雰囲気下に保存する。一定温度で一定期間保存した後、主成分であるメチルコバラミンについて、高速液体クロマトグラフィ（以下「HPLC」という。）により、その濃度をメチルコバラミンに対応するピーク面積から算出する。そして、HPLCによる保存開始時のメチルコバラミンのピーク面積と、所定の期間保存後のメチルコバラミンのピーク面積とから、後述する実施例にて定義される式から、残存率を見積ることができる。

【0066】

本発明に係る凍結乾燥製剤は、室温で少なくとも2年間保存した場合の残存率が95%以上であることが望ましい。また、40℃で6ヶ月間保存した場合においても、残存率が95%以上であることがより望ましい。

【0067】

本発明を以下に実施例によってさらに詳細に説明するが、本発明の範囲はこれに限定されるものではない。本発明の記載に基づき、種々の変更、修飾が当業者には可能であり、これらの変更、修飾も本発明に包含される。

【0068】

【実施例】

製造例 1

本発明に係る凍結乾燥製剤の製造法としての一の実施態様として、スクロースとマンニトールとの混合物からなる賦形剤を、後述するような混合割合に基づく、メチルコバラミンとともに仕込み液を調製し、下記の凍結乾燥法により製造した。

メチルコバラミン（商品名メチコバル：エーザイ（株）製）0.5%（w/v）と、賦形剤混合物2.5%（w/v）を混合した仕込み液を調製し、無菌濾過を行った後、無菌的に各バイアルに正確な量で充填し、凍結乾燥に供した。凍結乾燥後、完全に打栓し、本発明に係るメチルコバラミン含有凍結乾燥製剤を製造した。

具体的には、図1中に示すスクロースとマンニトールとの混合比になる量を、

100ml ビーカに入れ、80ml の注射用蒸留水を加えて、マグネティックスターラで攪拌溶解させた。前記賦形剤が十分に溶解したことを確認した後、500mg のメチルコバラミンを添加して攪拌し、十分に溶解したことを確認した後、100ml メスフラスコにて全体の溶液量を100ml になるように蒸留水を添加した。

その後、前述の溶液を18ml バイアルに5ml ずつ充填し、予備凍結-55℃、3時間、1次乾燥-10℃、24時間(0.1mbar)、2次乾燥25℃、36時間(0.02mbar)で凍結乾燥を行い、実施例1~5として、本発明に係る凍結乾燥製剤を得た。

なお、比較例1として、図1に示すマンニトールのみを賦形剤として含有する凍結乾燥製剤の調製も同様な方法により行った。

【0069】

製造例2

メチルコバラミン(商品名メチコバル:エーザイ(株)製)0.5%(w/v)と、賦形剤混合物5.0%(w/v)とを混合した仕込み液を調製し、無菌濾過を行った後、無菌的に各バイアルに正確な量で充填し、凍結乾燥に供した。凍結乾燥後、完全に打栓し、本発明に係るメチルコバラミン含有凍結乾燥製剤を製造した。

具体的には、図2中に示すスクロースとマンニトールとの混合比になる量を、100ml ビーカに入れ、80ml の注射用蒸留水を加えて、マグネティックスターラで攪拌溶解させた。前記賦形剤が十分に溶解したことを確認した後、500mg のメチルコバラミンを添加して攪拌し、十分に溶解したことを確認した後、100ml メスフラスコにて全体の溶液量を100ml になるように蒸留水を添加した。

その後、前述の溶液を18ml バイアルに5ml ずつ充填し、予備凍結-55℃、3時間、1次乾燥-10℃、24時間(0.1mbar)、2次乾燥25℃、36時間(0.02mbar)で凍結乾燥を行い、実施例6~10として、本発明に係る凍結乾燥製剤を得た。

なお、比較例2として、図2に示すマンニトールのみを賦形剤として含有する

凍結乾燥製剤の調製も同様な方法により行った。

【0070】

製造例 3

次に、賦形剤として、ラクトースとマンニトールとの混合物を、図 3 に示す混合割合に基づいて、製造例 1 に記載した方法（スクロースとマンニトールの代わりに、ラクトースとマンニトールを使用する）に準じてメチルコバラミンとともに仕込み液を調製し、製造例 1 と同様の条件にて、凍結乾燥製剤を製造した（実施例 11 及び 12）。

なお、比較例 3 として、図 3 に示すマンニトールのみを賦形剤として含有する凍結乾燥製剤の調製も同様な方法により行った。

【0071】

製造例 4

賦形剤として、ラクトースとマンニトールとの混合物を、図 4 に示す混合割合に基づいて、製造例 1 に記載した方法（スクロースとマンニトールの代わりに、ラクトースとマンニトールを使用する）に準じてメチルコバラミンとともに仕込み液を調製し、製造例 1 と同様の条件にて、凍結乾燥製剤を製造した（実施例 13 及び 14）。

なお、比較例 4 として、図 4 に示すマンニトールのみを賦形剤として含有する凍結乾燥製剤の調製も同様な方法により行った。

【0072】

製造例 5

100 ml ビーカにスクロース 12.5 g を量りとり、予め用意しておいた pH 7.0 の 1 mM リン酸緩衝液 80 ml に溶解させた。前記スクロースが十分に溶解したことを確認した後、0.5 g のメチルコバラミンを前記緩衝液にさらに添加し、溶解確認後、100 ml メスフラスコで、蒸留水にて 100 ml に調液した。このように調製された溶液を 15 ml バイアルに 5 ml ずつ充填し、製造例 1 と同条件にて凍結乾燥させて、メチルコバラミン含有凍結乾燥製剤を得た（実施例 15）。

【0073】

製造例 6

1 0 0 0 m l のビーカーにラクトース 2 5 g を量りとり、8 0 0 m l の注射用水で溶解させる。これに、0 . 6 9 g のリン酸 2 水素ナトリウム 1 水和物を加え、十分に攪拌させた。前記ラクトース及びリン酸 2 水素 1 ナトリウムが十分に溶解したことを確認した後、5 g のメチルコバラミンを添加し、計量した容器に残ったメチルコバラミン注射用水で洗い込んだ。そして溶解確認後、予め用意しておいた 0 . 1 M 水酸化ナトリウム水溶液を適宜添加し、p H を 7 . 0 に調整した。1 0 0 0 m l メスシリンダーで、蒸留水にて 1 0 0 0 m l に調液した。このように調製された溶液 1 5 m l バイアルに 5 m l ずつ充填し、製造例 1 と同条件にて凍結乾燥させて、メチルコバラミン含有凍結乾燥製剤を得た（実施例 1 6）。

【 0 0 7 4 】

製造例 7

1 0 0 m l ビーカーにラクトース 1 2 . 5 g を量りとり、酸化剤としてのクエン酸 1 水和物 1 g と 8 0 m l の注射用水を加えて攪拌した。前記ラクトースとクエン酸が十分に溶解したことを確認した後、0 . 5 g のメチルコバラミンをさらに添加した。溶解確認後、予め用意しておいた 0 . 1 M 水酸化ナトリウム水溶液で p H を 7 . 0 に調整し、1 0 0 m l メスフラスコで、蒸留水にて 1 0 0 m l の調液した。このように調製された溶液を 1 5 m l バイアルに 5 m l ずつ充填し、製造例 1 と同条件にて凍結乾燥させて、メチルコバラミン含有凍結乾燥製剤を得た（実施例 1 7）。

【 0 0 7 5 】

製造例 8

1 0 0 m l の各ビーカーに、スクロースと、ラクトースとを、それぞれ、1 2 . 5 g を量りとり、予め用意しておいた p H 7 . 0 の 1 m M リン酸緩衝液 8 0 m l で溶解させた。溶解確認後 0 . 5 g のメチルコバラミンを各々の溶液に加え、さらに攪拌溶解し、溶解確認後 1 0 0 m l メスフラスコで、蒸留水にて 1 0 0 m l に調液した。このように調製された各溶液を 1 5 m l バイアルに 5 m l ずつ充填し、予備凍結 - 5 5 ℃、3 時間、1 次乾燥 - 1 0 ℃、2 4 時間（0 . 1 m b a r）、二次乾燥 2 5 ℃、3 6 時間（0 . 0 0 2 m b a r）の製造条件で凍結乾燥さ

せて、メチルコバラミン含有凍結乾燥製剤を得た（それぞれ、実施例 18 と、実施例 19 とする）。

【0076】

[保存安定性の評価]

メチルコバラミンの残存量に基づく、保存安定性の評価を以下のように行った。

すなわち、前述の製造例に基づいて無菌的に調製したメチルコバラミン含有凍結乾燥製剤を、5℃、25℃及び40℃の恒温槽で1ヶ月間保存した。保存凍結乾燥製剤をHPLC測定時の移動相で溶解し、25mlのメスフラスコを用いて調液した。この検体を用いて、下記の試験方法によりメチルコバラミン含有量（残存率）を測定し、メチルコバラミンの保存安定性を評価した。

HPLC分析は、下記の条件でメチルコバラミン含有量を測定した。

HPLC条件

カラム: hydrosphere C18, S-5 μ m, 250 x 4.6 mm I.D.

移動相: アセトニトリル/0.02 mol/L リン酸緩衝液 (pH3.5)/1-ヘキサンスルホン酸ナトリウム (2/8/3.8, v/v/w)

HPLC分析条件

- ①カラム温度 40℃、②サンプル温度 8℃、③流量 1 mL/min
- ④検出器 紫外線吸光光度計（測定波長: 266 nm）

メチルコバラミンの残存率は、該メチルコバラミンに対応するピーク面積から算出した。HPLCによる保存開始前のメチルコバラミンのピーク面積と、保存後のメチルコバラミンのピーク面積との相対面積比から、前記残存率を以下のように求めた。

$$\text{残存率 (\%)} = \left\{ \frac{\text{(保存後のメチルコバラミンのピーク面積)}}{\text{(保存後の全ピーク面積)}} \right\} / \left\{ \frac{\text{(保存前のメチルコバラミンのピーク面積)}}{\text{(保存前の全ピーク面積)}} \right\} \times 100$$

かかる測定方法により得られた、製造例 1～4 の残存率の結果を、図 5～図 8

に、それぞれ示す。

【0077】

[粉末X線回折]

製造例1で得られた各メチルコバラミン含有凍結乾燥製剤の粉末X線回折を行い、保存前の製剤と、5℃、25℃、40℃の恒温層での1ヶ月保存製剤について、該製剤の結晶状態を、下記の条件で観測した。

粉末X線回折の測定条件を以下に示す。

X線：Cu K-alpha 1/30 kV /40 mA

ゴニオメータ：RINT2000縦型ゴニオメータ

フィルタ：Kβフィルタ

発散スリット：1/2 deg

散乱スリット：1/2 deg

受光スリット：0.15 mm

走査スピード：連続

スキャンスピード：2°/min

スキャンステップ：0.02°

走査軸：2θ/θ

走査範囲：5～40°

オフセット：0°

固定角：0°

【0078】

図9は、製造例1の保存前の製剤の代表的なX線回折パターンの結果を示す。なお、図9中の(a)、(b)、(c)、(d)及び(e)は、製造例1の実施例1、実施例3～5及び比較例1についてのX線回折パターンを示し、各保存条件における保存前後において、X線回折パターンの変化は認められなかった。

【0079】

図5及び図6の結果から明らかなように、メチルコバラミンに対する賦形剤混合物の添加量にかかわらず、賦形剤混合物であるスクロース/マンニトール中の存在するスクロースの混合割合が20%以上である場合、メチルコバラミン含有

凍結乾燥製剤中のメチルコバラミンの残存率が非常に高く、メチルコバラミンの保存安定性が優れることが判明した。

【0080】

一方、図9に示すX線回折の結果から、メチルコバラミン及びスクロースからなる実施例1の(a)では、粉末X線回折ピークはほとんど存在せず、凍結乾燥製剤に対するメチルコバラミンの含有量に鑑みれば、スクロースが非晶質状態で存在していることが分かった。そして、賦形剤混合物中のマンニトールの割合の増加とともに、マンニトールに由来する回折ピークが出現する。

【0081】

したがって、残存率及びX線回折パターンの結果から、賦形剤中にスクロースが20%以上の場合、換言すれば、賦形剤のうち少なくとも1種類が非晶質状態である場合、メチルコバラミン含有凍結乾燥製剤の保存安定性は非常に良好であることが実証された。

【0082】

なお、実施例15～19のサンプルを、60℃、1ヶ月の保存条件にて保存安定性を評価したが、いずれのサンプルでも極めて安定であり、メチルコバラミン残存率の低下は認められなかった。

【0083】

また、図7及び図8は、賦形剤混合物としてのラクトース/マンニトールの混合割合に対する、メチルコバラミンの残存率の結果を示す図である。図7及び図8に示す結果から明らかなように、メチルコバラミンに対する賦形剤混合物の添加量にかかわらず、賦形剤混合物のラクトース/マンニトール中において、非晶質状態で存在するラクトースの混合割合が50%以上である場合、メチルコバラミンの残存率は非常に高いことが明らかとなった。

【0084】

以上のことから、本発明に係るメチルコバラミン含有凍結乾燥製剤では、賦形剤のうち少なくとも1種類が非晶質状態である場合、メチルコバラミンの安定性が向上することが判明した。また、pH調整剤や酸化防止剤をさらに含有する、メチルコバラミン含有凍結乾燥製剤の保存安定性も向上した。

【0085】

【発明の効果】

本発明に係るメチルコバラミンを含有する凍結乾燥製剤によれば、保存安定性に優れ、かつ、溶液に溶解して注射液を調製するのに適した用時溶解型の凍結乾燥製剤を提供することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】 本発明による一の実態様における、メチルコバラミン凍結乾燥製剤を製造する場合に用いられる、スクロース/マンニトールの混合割合を示す図である。

【図2】 本発明による別の実施態様における、メチルコバラミン凍結乾燥製剤を製造する場合に用いられる、スクロース/マンニトールの混合割合を示す図である。

【図3】 本発明による他の実施態様における、メチルコバラミン凍結乾燥製剤を製造する場合に用いられる、ラクトース/マンニトールの混合割合を示す図である。

【図4】 本発明によるさらに別の実施態様における、メチルコバラミン凍結乾燥製剤を製造する場合に用いられる、ラクトース/マンニトールの混合割合を示す図である。

【図5】 本発明に係る凍結乾燥製剤の賦形剤としてのスクロース/マンニトールの混合割合に対する、メチルコバラミンの残存率の結果を示す図である。

なお、図5と後述する図6～8について共通することであるが、1Mとは保存期間の1ヶ月を表す。

【図6】 本発明に係る凍結乾燥製剤の賦形剤としてのスクロース/マンニトールの混合割合に対する、メチルコバラミンの残存率の結果を示す図である。

【図7】 本発明に係る凍結乾燥製剤の賦形剤としてのラクトース/マンニトールの混合割合に対する、メチルコバラミンの残存率の結果を示す図である。

【図8】 本発明に係る凍結乾燥製剤の賦形剤としてのラクトース/マンニトールの混合割合に対する、メチルコバラミンの残存率の結果を示す図である。

【図9】 本発明より製造されたメチルコバラミン含有凍結乾燥製剤のX線

回折パターンを示す図である。図 9 において、(a) 賦形剤がスクロースのみからなる場合（実施例 1）、(b) 賦形剤がスクロース/マンニトール = 1/1 の場合（実施例 3）、(c) 賦形剤がスクロース/マンニトール = 2/3 の場合（実施例 4）、(d) 賦形剤がスクロース/マンニトール = 1/4 の場合（実施例 5）、(e) 賦形剤がマンニトールのみからなる場合（比較例 1）、の各 X 線回折パターンを示す。

【書類名】 図面

【図 1】

サンプル	スクロース	マンニトール
実施例1	2.5g	0g
実施例2	1.5g	1.0g
実施例3	1.25g	1.25g
実施例4	1.0g	1.5g
実施例5	0.5g	2.0g
比較例1	0g	2.5g

【図 2】

サンプル	スクロース	マンニトール
実施例6	5.0g	0g
実施例7	3.0g	2.0g
実施例8	2.5g	2.5g
実施例9	2.0g	3.0g
実施例10	1.0g	4.0g
比較例2	0g	5.0g

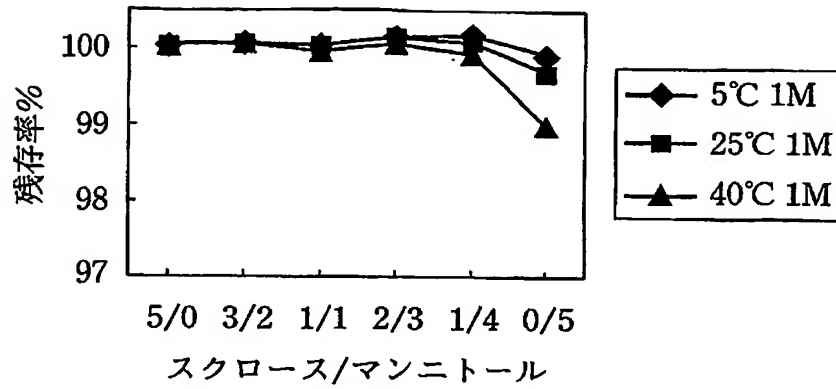
【図 3】

サンプル	ラクトース	マンニトール
実施例11	2.5g	0g
実施例12	1.25g	1.25g
比較例3	0g	2.5g

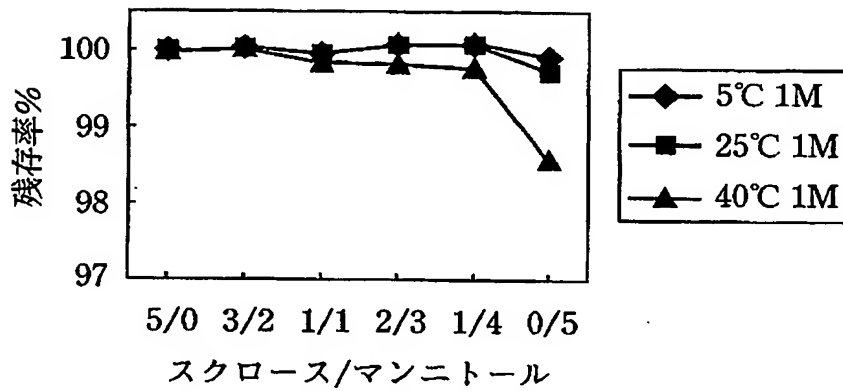
【図 4】

サンプル	ラクトース	マンニトール
実施例13	5.0g	0g
実施例14	2.5g	2.5g
比較例4	0g	5.0g

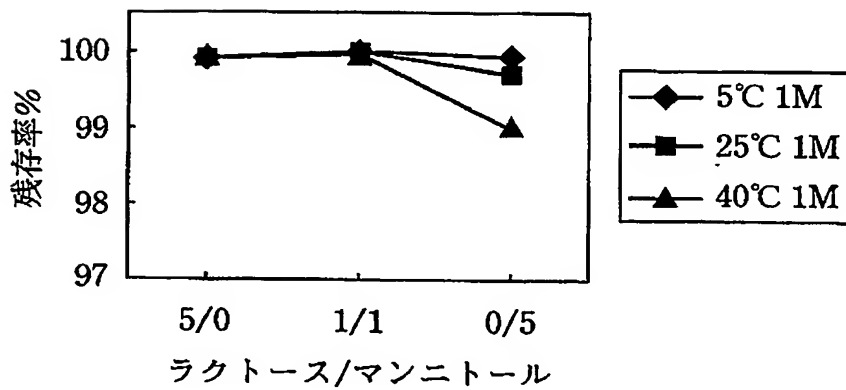
【図 5】



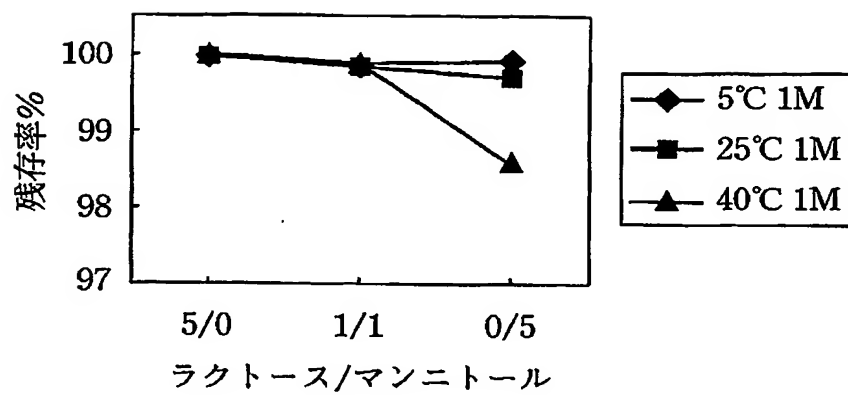
【図 6】



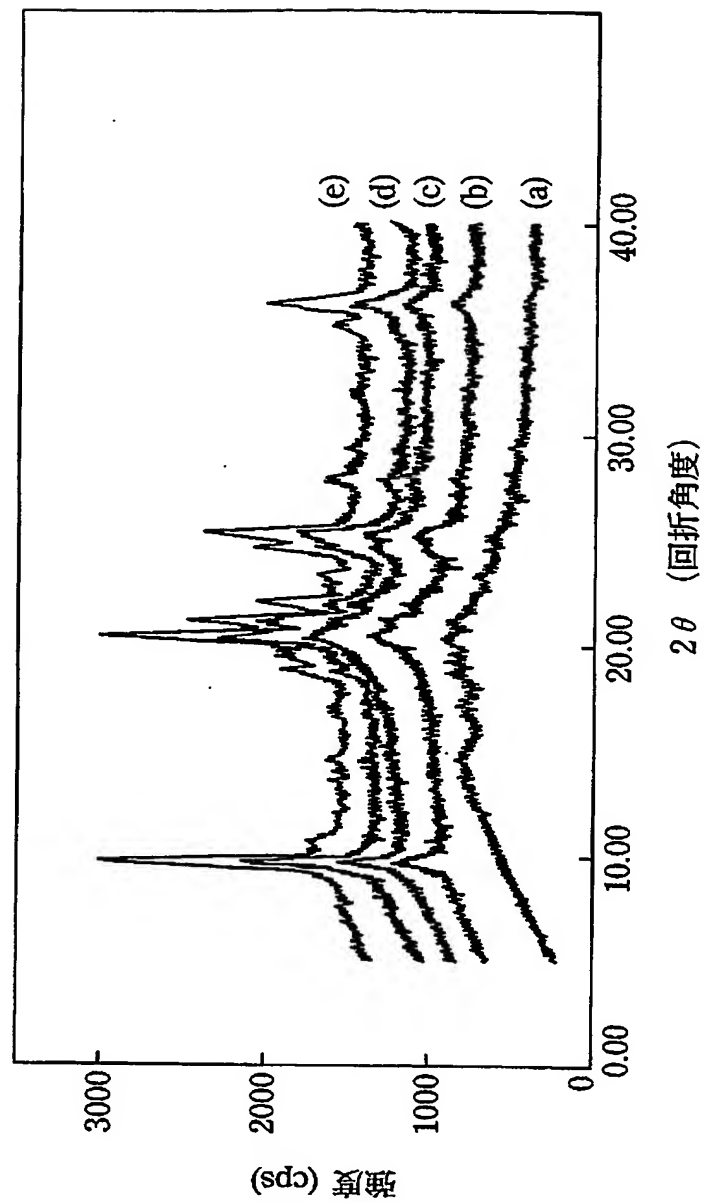
【図 7】



【図 8】



【図 9】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 経時的な安定性に優れるメチルコバラミンの高濃度療法に使用可能である、メチルコバラミンの高含有量を含む凍結乾燥製剤を提供する。

【解決手段】 メチルコバラミン又はその薬理学的に許容しうる塩と、賦形剤と、を含み、前記賦形剤が少なくとも非晶質状態である凍結乾燥製剤を開示する。前記凍結乾燥製剤において、前記賦形剤が糖類及び糖アルコールを含む場合、糖類と糖アルコール類の合計重量に対して、非晶質状態である前記賦形剤を少なくとも 2 0 重量%含有することを特徴とする。

【選択図】 図 9

認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2 0 0 3 - 1 2 9 2 5 1
受付番号	5 0 3 0 0 7 5 3 3 4 3
書類名	特許願
担当官	第五担当上席 0 0 9 4
作成日	平成 1 5 年 5 月 8 日

<認定情報・付加情報>

【提出日】	平成15年 5月 7日
-------	-------------

次頁無

特願 2003-129251

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[000000217]

1. 変更年月日

1990年 8月29日

[変更理由]

新規登録

住 所

東京都文京区小石川4丁目6番10号

氏 名

エーザイ株式会社